Aus der Dermatologischen Universitätsklinik und Poliklinik
der Universität München
(Direktor: Professor Dr. J. Mayr)

Der Resorptionsnachweis von Blei nach perkutaner Anwendung bleihaltiger Salben, insbesondere Ungt. Diachylon, mittels Abfangverfahren und mittels histochemischer Methoden

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen medizinischen Fakultät der Bayerischen
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Josef Schmid
aus Straubing

München 1939
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Aus der Dermatologischen Universitätsklinik und Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. J. Mayr)

Der Resorptionsnachweis von Blei nach perkutaner Anwendung bleihaltiger Salben, insbesondere Ungt. Diachylon, mittels Abfangverfahren und mittels histochemischer Methoden

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen medizinischen Fakultät der Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Josef Schmid
aus Straubing

München 1939
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Dekan: Professor *Dr. Dabelow*

Berichterstatter: Professor *Dr. J. Mayr*

Tag der mündlichen Prüfung:
2. Oktober 1939

RIJKSUNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner Mutter

in Dankbarkeit

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554006_0178

Das Blei gehört zu den Metallen, die die Wissenschaft schon seit Jahrhunderten beschäftigen. Eine systematischere Erforschung begann aber erst im 17. Jahrhundert. 1656 veröffentlichte der Goslaer Bergwerksarzt *Stockhusen* sein Werk „de lithargyri fumo, die Hüttenkatze, usw.", in welchem er sich als erster auch mit der Frage der Bleiaufnahme durch die Haut befaßte.

Von den zahllosen Arbeiten, die von da ab diese Frage behandelten, sind die bedeutendsten die von *Tanquerel des Planches* 1839, *Manouvriez* 1873, *Drouet* 1875, *Monnereau* 1883. Alle diese älteren Arbeiten führten zu keiner Klärung der Frage, was oft schon in der mangelhaften Versuchsanordnung begründet war, wobei entweder andere Resorptionswege nicht ausgeschlossen werden konnten oder die Kürze der Versuche bezw. die Unverwendbarkeit der benutzten bleihaltigen Stoffe, keine verlässigen Ergebnisse zeitigen konnte.

Erst in den letzten Jahrzenten wurden durch die Verfeinerung der Untersuchungsmethoden physikalischer und chemischer Art wieder wesentliche Fortschritte auf dem Gebiete der Permeierbarkeit des Hautorgans ermöglicht. Bevor man zu den neueren Arbeiten im einzelnen Stellung nimmt, ist es erforderlich, den Stand der Theorie über die Resorptionsfähigkeit der Haut zu betrachten.

Resorption ist die Aufnahme gelöster Stoffe in das Innere der lebenden Substanz. Es genügt (nach *Heidenhein, C. Ludwig, Durig*) nicht, den osmotischen Druck als die alleinige Kraft anzusehen, die gelöste Stoffe veranlassen könnte, aus der Außenflüssigkeit durch die Plasmahaut in das Zellinnere zu diffundieren. Man suchte daher unter Zugrundelegung der Gallertstruktur der Zelle im Quellungsdruck *(C. Ludwig, Durig, Süßmann)* eine neue Erklärungsmöglichkeit für den Vorgang der perkutanen Resorption. Hierbei entstand jedoch eine neue Schwierigkeit, da die Quellfähigkeit von Gallerten durch Elektrolyte weitgehendst von deren Konzentration und deren chemischer Natur abhängig ist. Erst die *Overton*'sche Lipoidtheorie schien hier weiterzuhelfen. *Süßmann* sieht in dieser Beziehung die Vorstellungen von *F. Čzapek* als eine allen Erscheinungen einigermaßen gerecht werdende Lösung an. *F. Čzapek* betrachtete die Plasmahaut nicht, wie *Overton*, als eine zusammenhängende Lipoidmembran, sondern als eine konzentrierte Lipoidemulsion in einem wässerigen Dispersionsmittel (Eiweißgallerte). Eine derartige Plasmagrenzschicht kann an der einzelnen lebenden Zelle ohne vitale Gefährdung erhebliche physikalische Zustands-

änderungen durchlaufen. Quellung des Eiweißgerüstes mit Auseinanderdrängen der Lipoidteilchen wird wasserlöslichen Stoffen den Durchtritt erleichtern; starke Entquellung umgekehrt erschweren oder sogar bei vollständigem Zusammenfließen der Lipoidtröpfchen zu einer zusammenhängenden Schicht *(Clowes)* völlig verhindern. Auch der Quellungszustand des Lezithins und das Verhalten des Cholesterins sind hier von Bedeutung *(Bechhold)*. Der Weg ins Zellinnere wäre somit lipoidlöslichen Stoffen jederzeit offen, während er kolloidalen Substanzen stets, wasserlöslichen Kristalloiden nur unter bestimmten Verhältnissen versperrt ist. *Czapek* nennt nun den Zustand in dem sich die Lipoidteilchen so genähert haben, daß ein Durchtritt für rein wasserlösliche Stoffe unmöglich ist und eine Aufnahme nur nach dem Grade der Lipoidlöslichkeit stattfinden kann, den Zustand der physikalischen Permeabilität und hält ihn für den Ruhezustand der Zelle. Die Quellung des Eiweißgerüstes führt zum Zustand der physiologischen Permeabilität in welchem seiner Ansicht nach ein aktiver Zustand der Zelle zu erblicken ist. Die Ursachen für diese Zustandsänderungen liegen vielleicht in den verschiedenen Ionisationsbildern, die der nutritiven Verfassung der Zelle jeweils entsprechen.

Es ist zu bemerken, daß auch der Adsorption eine Rolle beim Resorptionsvorgang zukommt, die nach neueren Forschungen *(Stejskal)* sogar eine sehr große ist. *Stejskal* hält die Adsorption für die Folge der chemischen Affinität des Stoffes zum Gewebe und damit für die Hauptsache bei der Resorption. Eine Erörterung des Für und Wider in dieser Frage würde zu weit über den Rahmen dieser Arbeit führen.

Man darf annehmen, daß jedem funktionell differenziertem Gewebe ein typischer Quellungszustand entspricht, daß also Epithelien, deren Aufgabe mehr die einer isolierenden Bedeckung ist, verhältnismäßig wasserarm, dafür aber reich an lipoiden Substanzen sein werden. Die Epithelzellen werden damit auch eine Plasmahaut mit besonders dichter lipoider Durchtränkung besitzen; sie sind Zellen, die sich damit dauernd in einem Zustand schwacher physiologischer Permeabilität befinden, d. h. die Resorption wird an ihnen mehr nach physikalischen Gesetzmäßigkeiten verlaufen: Vorherrschen osmotischer Vorgänge, Impermeabilität für lipoidunlösliche Stoffe. Die tierische Epidermis besitzt von allen Epithelien des Tierkörpers das geringste Quellungsvermögen und für sie haben die *Overton'*schen Anschauungen in vollem Maße Geltung. Darüber, daß von den drei Epidermisschichten: Hornschicht, Uebergangsschicht, Keimschicht, die Uebergangsschicht eine ausschlaggebende Rolle spielt, herrscht keine Meinungsverschiedenheit.

Die toten Zellen der Hornschicht sind unter anderen Gesichtspunkten als den oben erwähnten Resorptionsgesetzen zu betrachten;

sie besitzen ein starkes, empirisch bestimmbares, Quellungsvermögen. Auch der Fettüberzug der Säugetierhaut hebt das Quellungsvermögen der Hornhaut nicht auf *(Unna, Schwenkenbecher, Kyrle)*, da im Hauttalg „hydrophile Stoffe" enthalten sind, d. h. daß der Hauttalg emulgierbar ist, bzw. eine Emulsion darstellt. Mit dem eindringenden Wasser werden auch gelöste Stoffe aller Art aufgenommen *(Traube, Mengarini, Rothmann)*. Die Quellung kommt erst nach längerer Einwirkung von Wasser zustande und die zu resorbierenden Stoffe müssen der Hautoberfläche dauernd anliegen.

Die Zellen, der für die Resorption so wichtigen, Uebergangsschicht gehen dem Tode entgegen und weisen einen geringen Stoffwechsel und ein geringes Quellungsvermögen auf. Nach neueren Untersuchungen liegt der Grund darin, daß vielleicht in dieser Schicht, die auf der einen Seite stark sauer, auf der anderen kaum sauer oder schwach alkalisch ist, die Wasserstoffionenkonzentration der quellbaren Eiweiße ihrem isoelektrischen Punkt entspricht, d. h. die Eiweißstoffe entladen sind. Damit wäre ihre Quellbarkeit gleich Null *(Rothmann)*.

Diese Wasserundurchlässigkeit ist der charakteristische Unterschied gegenüber der Haut der Poikilothermen. Die Keimschicht hat für die Permeabilität der Haut keine wesentliche Bedeutung mehr, denn die jungen Zellen dieser Schicht nehmen sicher auch alle Stoffe auf, welche die Schranke der Uebergangsschicht überwunden haben. Nicht zu vergessen sind die Talgdrüsen und Follikel. Nach Untersuchungen von *Oppenheim* ist die Hautresorption stark abhängig von der Zahl der vorhandenen Talgdrüsen. Jedoch gleichen die Zellen in ihrem resorptiven Verhalten den Mittellagen der Epidermis, es werden also durch sie keine neuen Resorptionsbedingungen geschaffen.

Aus diesen Betrachtungen geht hervor, daß bei den eigenwarmen Tieren nur gleichzeitig wasser- und lipoidlösliche Stoffe durch die Haut resorbiert werden können. Diese Erkenntnis wurde von *Schwenkenbecher* experimentell bestätigt. *Schwenkenbecher* war es auch, der darauf hinwies, daß der Lymphstrom bis zwischen die Zellen der Mittellagen reicht und dadurch eine interzelluläre Resorption möglich sein könnte. Eine experimentelle Bestätigung dieser Ansicht fehlt noch, jedoch ist anzunehmen, daß auf diesem Wege keine bedeutenden Stoffmengen resorbiert werden.

Mir war im Rahmen der von *Moncorps* seit Jahren systematisch betriebenen Untersuchungen über die Pharmakologie und Pharmakodynamik von Salben und salbeninkorporierten Medikamenten die Aufgabe gestellt, die Frage der Pb-haltigen Salben, insbesondere der therapeutisch viel verwendeten Ungt. Diachylon, experimentell zu bearbeiten.

Welche bleihaltigen Salben weisen nach diesen Betrachtungen die Vorbedingungen für eine perkutane Permeierbarkeit auf? Salben, die das ölsaure Blei, das lipoid- und wasserlösliche Salz des Bleies, enthalten. Der Teilungskoeffizient des ölsauren Bleies ist sehr hoch, wodurch besonders günstige Resorptionsbedingungen zu erwarten wären. Eine Komplikation ist nicht zu vergessen *(Süßmann)*: Fettlöslich erscheint nur das nichtdissoziierte Salz, im wasserhaltigen Zellprotoplasma wird aber auch eine teilweise Dissoziation eintreten und die freien Pb-Ionen könnten Albuminatfällungen erzeugen, die das Weiterwandern des metallischen Pb verhindern würden. Jedoch scheint der Umfang dieser Fällungen nicht so groß zu sein, daß nicht genügend Pb-Ionen zum Weiterwandern übrigbleiben. Dies darf aus den Ergebnissen der neueren Untersuchungen geschlossen werden *(Brezina* und *Eugling*, *Vogt* und *Burkhardt*, *Süßmann)*.

F. Brezina und *Eugling* (1912) verwendeten ölsaures Blei mit verschiedenen Salbengrundlagen. Sie fanden u. a. auch, daß bei Anwendung von Talg oder Lanolin die basophile Punktierung der Erythrocyten, die sie zur Diagnose der Resorption heranzogen, schneller auftrat als bei Verwendung von Vaseline. Diese Ergebnisse sind nicht bestätigt worden, obwohl sie uns nach den Arbeiten von *Moncorps* als richtig erscheinen.

Vogt und *Burkhardt* (1916) verwendeten ebenfalls Bleioleat. Ihre Ergebnisse werden deshalb nicht als einwandfrei angesehen, weil andere Resorptionswege, nämlich die perorale Aufnahme, durch die Versuchsanordnung nicht ausgeschlossen werden konnten.

Endlich veröffentlichte *Süßmann* Werte über die Bleiaufnahme, doch wurden diese Ergebnisse nicht im vollen Umfange anerkannt, unbestritten ist jedoch die Feststellung, daß das salbeninkorporierte Blei durch die unverletzte Haut des Warmblüters resorbiert wird.

Eigene Untersuchungen

über den Resorptionsnachweis von Blei nach perkutaner Anwendung bleihaltiger Salben, mittels Abfangverfahren und mittels histochemischer Methoden.

Tierversuche:

I. Abfangverfahren:

Es wird angenommen, daß das durch die Haut resorbierte metallische Blei durch den Schwefel des subkutanen Depots als Bleisulfid gefällt wird.

Als Versuchstiere wurden weiße Mäuse verwendet. Am Rücken wurden die Haare unter sorgfältiger Vermeidung von Verletzungen an einer markstückgroßen Stelle entfernt. Unter die enthaarte Haut-

stelle wurde ein Depot von Sulf. praec. in Paraffin (2 g Sulf. praec. auf 10 ccm Paraffin liq.) gesetzt, auf diese dann ein Salbenverband angelegt. Verwendet wurden:

Diachylonsalbe DAB VI,
5% Salicyl-Diachylonsalbe,
10% Salicyl-Diachylonsalbe.

Bei der ersten Versuchsreihe wurde die Salbe auf die unverletzte Haut, bei der zweiten auf die durch Bimstein aufgerauhte Haut aufgetragen. Der Verband wurde bei allen Versuchen des Abfangverfahrens für die Dauer von 24 Stunden auf der Haut belassen. Die Tiere waren während dieser Zeit auf kleinen Tischchen so aufgespannt, daß sie Salbe auf keinem anderen Weg als durch die Haut aufnehmen konnten. Nach 24 Stunden wurden die Tiere getötet und die Rückenhaut mit dem Depot abpräpariert. Insgesamt wurden in Reihenversuchen 52 Mäuse zu diesen Untersuchungen benutzt.

a) Unverletzte Haut.

Versuchsreihe 1: Diachylonsalbenverband: Bei den 12 Mäusen konnte nach Aufklappen der Rückenhaut makroskopisch weder an der Haut selbst noch am Depot eine Veränderung festgestellt werden.

Versuchsreihe 2: 5% Salicyl-Diachylonsalbe: Die makroskopische Betrachtung der Haut und des Depots von den 8 behandelten Tieren zeigte diese unverändert.

Versuchsreihe 3: 10% Salicyl-Diachylonsalbe: In der Annahme, daß ein höherer Salicylgehalt für die Resorption günstigere Bedingungen schaffen würde, ist nun statt der 5 eine 10%ige Salicyl-Diachylonsalbe verwendet worden. Eine Bestätigung dieser Annahme blieb, soweit dies makroskopisch feststellbar war, aus. Auch hier wurden bei den 10 Versuchstieren keinerlei Zeichen einer Sulfidbildung gefunden.

b) Verletzte Haut.

Versuchsreihe 4: Diachylonsalbenverband: Die Haut wurde mit Bimstein leicht aufgerauht. Auch bei diesem Versuch (4 Tiere) war das makroskopische Bild unverändert. Bei 4 weiteren Tieren wurde die Haut so aufgerauht, daß sie leicht blutete. 2 Tiere wiesen eine starke, rotbraune Verfärbung der Haut auf. Bei den anderen 2 Tieren war die Verfärbung weniger deutlich. Dagegen schienen die Depots bei makroskopischer Betrachtung nicht verändert zu sein.

Versuchsreihe 5: 5% Salicyl-Diachylonsalbe: In 1 Fall war eine starke, rotbraune Verfärbung, in den 3 anderen Fällen eine schwächere festzustellen. Die Depots waren makroskopisch wiederum unverändert.

Versuchsreihe 6: 10% Salicyl-Diachylonsalbe: Von 10 Mäusen wiesen 2 eine starke, 8 eine weniger starke Veränderung auf. Die Depots zeigten keine Farbänderung.

Von allen Versuchen wurden mikroskopische Schnitte angefertigt. Die Betrachtung der Schnitte ergab, daß es gelungen war, das Blei auf seinem Wege durch die Haut als Bleisulfid abzufangen. Die beobachteten PbS-Fällungen fanden sich in der Hauptsache in der Cutis und nicht im Depot. Das PbS tritt in den Schnitten in Körnern verschiedenster Größe auf. Es war festzustellen, daß die Korngröße von der Epidermis zum Depot hin zunahm. Feinere PbS-Körner fanden sich vor allem in der Umgebung der Hautanhangsgebilde und verstreut in der Cutis, gröbere am Rande des Depots. Erhebliche Größenunterschiede in den zur Resorption und damit zur Fällung gelangten Mengen bei den verschiedenen Salben und Behandlungsarten ließen sich nicht nachweisen. Jedoch ist zu sehen, daß bei intakter Haut Blei aus der Diachylon- und 5% Salicyl-Diachylonsalbe relativ am besten, und aus der 10% Salicyl-Diachylonsalbe am schlechtesten zur Aufnahme gelangt. Die Aufrauhung der Haut mit Bimstein hatte keine Erhöhung der Pb-Resorption zur Folge, auf jeden Fall konnte eine solche auf dem Wege des Abfangverfahrens nicht ermittelt werden. Auch innerhalb der verwendeten Salben gab es bei der verletzten Haut keine Verschiebung gegenüber der bei der unverletzten Haut aufgeführten Reihenfolge: Diachylonsalbe, 5% Salicyl-Diachylon, 10% Salicyl-Diachylon. Die Depots wiesen bei allen Versuchen nur geringe Fällungen auf.

Zur Kontrolle wurden die gewonnenen Fällungen mit Mineralsäuren behandelt und erwiesen sich darin als unlöslich. Es konnte sich also nicht um Eisensulfid handeln. Um Formalinfällungen auszuschließen waren die Präparate in absolutem Alkohol fixiert worden.

Die Schnitte wurden so angefertigt, daß die Gefahr der Verschleppung der Fällungsprodukte eine möglichst geringe war.

II. Histochemischer Nachweis:

Die durch das Abfangverfahren gewonnenen Ergebnisse waren der Anlaß dafür, daß zum weiteren Nachweis der Bleiresorption durch die Haut eine histochemische Methode angewendet wurde. Das Verfahren von *Almkvist* erfüllt in bester Weise die drei Forderungen: Gewebsfixation, Metallfixation und Metalldifferenzierung, und wurde daher denen von *Kojima, Jwahashi* und *Tsunoda* vorgezogen.

Methode: 2—3 mm dicke Gewebsstückchen wurden in *Almkvists* Flüssigkeit: 100 ccm gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung mit 3 ccm 25% Salpetersäure versetzt (ein solch geringer Inhalt von Salpeter-

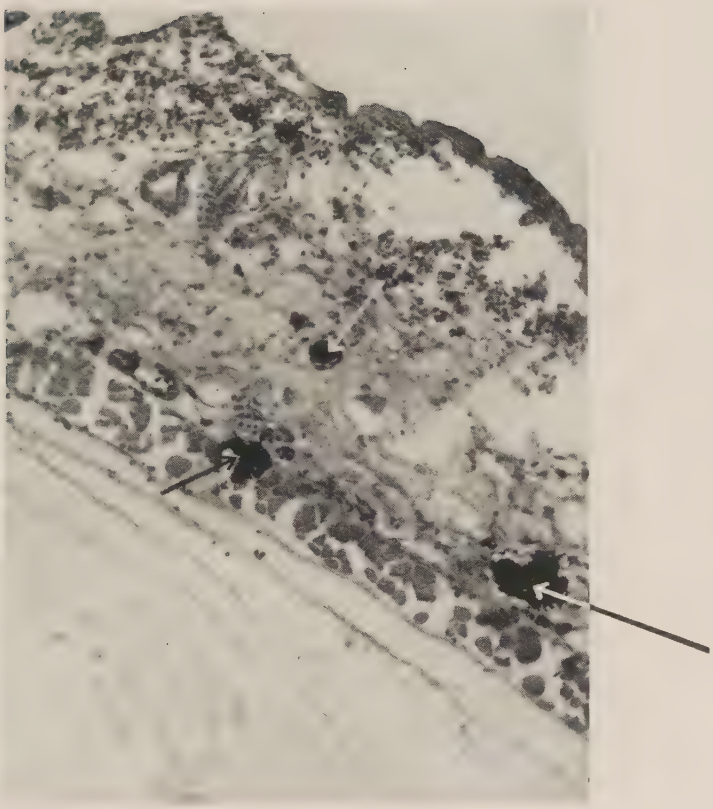

Abb. 1. Maus Nr. 13.

5% Salicyl-Diachylonsalbe. In der Cutis sind deutlich die schwarzen Fällungskörper zu sehen. Haematoxilin-Eosin-Färbung.

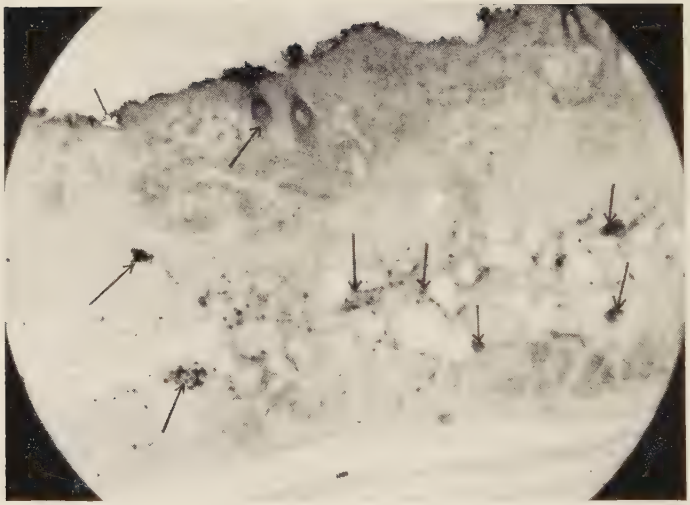

Abb. 2. Maus Nr. 67.

5% Salicyl-Diachylonsalbe, Verband für 24 Stunden. Verstreut über die Cutis, in den Gefäßen und in den Fettrandzellen sind deutlich die Fällungskörner zu sehen. Färbung nach *Almkvist*. Kontrolle nach Turnbull negativ, ebenso nach Mineralsäuren.

Abb. 3. Cavia cobaya Nr. 27.

10% Salicyl-Diachylonsalbe, aufgerauhte Haut, Randstelle. Verband für 48 Stunden. Die starken Fällungen in der Übergangsschicht zeigen deren hemmende Wirkung für die Resorption. Färbung nach *Almkvist*. Kontrolle nach Turnbull und mit Mineralsäuren negativ. Bei den groben, in der Cutis liegenden Körnern handelt es sich nicht um Bleisulfid.

Über den abgebildeten Verband wurden noch Leukoplast-Windungen gelegt, die auch auf das Fell übergingen und so ein Rutschen des Verbandes verhinderten.

säure wird, praktisch gesprochen, keinen Verlust von Blei veranlassen können, da Bleisulfid bekanntlich nur in warmer, konzentrierter Salpetersäure löslich ist), sorgfältig geschüttelt, nach 24 Stunden filtriert und dann mit Schwefelwasserstoff gesättigt, bei Zimmertemperatur fixiert (48 Stunden).

Die Gewebsfixierung ist gut. Die Fällung ist nach der genannten Zeit vollendet (nach längerer Zeit werden die Körnchen leicht grob). Nach sorgfältiger Spülung mit Brunnenwasser werden die Stückchen in Paraffin eingebettet. Ein Nachfärben der Schnitte ist unnötig, weil die Pikrinsäure dem Gewebe einen zarten gelben Farbton verleiht. Die Bleiablagerungen sind schwarzbraun.

In den Organen von Versuchstieren kommen nur zwei Fehlerquellen in Frage: Verwechslung mit Formalinausfällungen und Eisenablagerungen. Der erstere Fehler fällt mit der Vermeidung der Formalinfixation weg. Um Hämosiderinablagerungen nachzuweisen wurden Kontrollstücke mit Turnbullblau gefärbt: Fixierung in absol. Alkohol, Einbettung, Zelloidinschnitte, Aqua dest. Einlegen in gelbe konz., frisch bereitete Lösung von Schwefelammonium, 24 Stunden. Gründlich Abspülen in Aqua dest., Uebertragen in 20% Ferricyankaliumlösung, der vor Gebrauch die gleiche Menge 1% HCl zugefügt wird, 10 bis 15 Minuten. Gründlich wässern mit Aqua dest., Alkohol absol. Xylol, Balsam.

Außerdem wurden die Schnitte auch mittels Leuchtbildmethode (nach *E. Hoffmann*) betrachtet und damit eine weitere Differenzierung ermöglicht.

Als Versuchstiere wurden 30 weiße Mäuse verwendet. Die Versuchsanordnung blieb, abgesehen von dem Fehlen des subk. Schwefeldepots, die gleiche wie beim Abfangverfahren. Auch gelangten dieselben Salben zur Anwendung.

Nachdem die Untersuchung der nach *Almkvist* behandelten Hautschnitte eine Bestätigung der durch das Abfangverfahren gewonnenen Erkenntnis, daß nur geringe Pb-Mengen aus den Salben zur Resorption gelangen, ergab, wurden aus Gründen der leichteren Mikrotechnik und wegen des gleichlaufenden funkenspektrographischen Nachweises (Teil III) Meerschweinchen für die weiteren Versuche verwendet. Die Versuchsanordnung mußte daher eine Abänderung erfahren. Die Haare wurden auf einer ca. 20 qcm großen Fläche mittels Depilatorium entfernt, die enthaarte Haut mit Olivenöl eingerieben und erst nach 53 Stunden Salbenverbände mit Diachylon- und 10% Salicyl-Diachylonsalbe bei verletzter und unverletzter Haut angelegt. Der Verband war derart, daß die Tiere das Blei auf keinem anderen Wege als durch die Haut aufnehmen konnten. Eine Halskrause aus Gummi verhin-

derte die perorale Bleiaufnahme. Jedes Tier wurde einzeln untergebracht und nach der 48stündigen Versuchsdauer konnte in keinem Falle festgestellt werden, daß Salbe aus dem Verband ausgetreten war. Außer den Hautschnitten wurden von den Meerschweinchen auch Leber- und Nierenschnitte angefertigt.

Die Versuche wurden angestellt an 30 Mäusen und 10 Meerschweinchen. Die Gleichheit der mikroskopischen Bilder der Hautschnitte und ihre Uebereinstimmung mit denen des Abfangverfahrens, wenn man jetzt von später zu besprechenden Abweichungen in Bezug auf Korngröße und Lokalisation der Fällungen absieht, gestattet es, von Einzelbeschreibungen abzusehen. Insgesamt kann gesagt werden, daß auch die histochemische Methode den Nachweis erbrachte, daß nur geringste Mengen des salbeninkorporierten Bleis durch die Haut resorbiert werden. Bekräftigt wird diese Annahme dadurch, daß in den Leber- und Nierenschnitten keine histochemisch nachweisbaren Bleimengen festzustellen waren.

III. Funkenspektrographische Kontrolluntersuchungen.

Um im Falle eines Versagens der histochemischen Methode zum Bleinachweis in den Lebern und Nieren der Meerschweinchen einen weiteren Beweis für die durch die Haut erfolgte Bleiresorption zu haben, wurden gleichzeitig Teile dieser Organe auch auf funkenspektrographischem Wege untersucht. Dieses Verfahren hat nebenbei noch den Vorteil, daß es auch eine grobquantitave Bestimmung ermöglicht. Die funkenspektrographischen Aufnahmen wurden in freundlicher Weise von Herrn *Dr. Jan van Calker* am Physikalischen Institut der Universität Münster gemacht.

Es wurden gleiche Mengen (ca. 3 g) Leber und Niere der mit Diachylon und 10% Salicyl-Diachylonsalbe, in der gleichen Weise wie unter II. behandelten Tiere, untersucht. Zum Vergleich wurden auch Spektrogramme von unbehandelter Leber und Niere und von den verwendeten Salben angefertigt. Die Tiere wurden 48 Stunden nach Anlegen des Salbenverbandes getötet und die frisch entnommenen Organe sofort zur Untersuchung gebracht. Es handelte sich um dieselben Meerschweinchen, die zum histochemischen Nachweis verwendet wurden.

„Das eingereichte Untersuchungsmaterial wurde im Hochfrequenzfunken verfunkt und das ausgesandte Licht gleichzeitig mit einem Glas- und einem Quarzspektrographen aufgenommen. Die Belichtungszeiten betrugen durchschnittlich 4 Minuten. Zur Erhöhung der Leitfähigkeiten wurden die Proben mit spektralreiner Natriumnitratlösung angefeuchtet."

Die nachstehende Tabelle zeigt uns die Auswertung der 21 Spektralaufnahmen:

Verband	Tier-Nr.	Bleigehalt in Leber und Niere
Diachylonsalbe	21	++ +
	22	++ ++
Diachylonsalbe	25	+ ++
aufgerauhte Haut	26	+ ++
10% Salicyl-	23	+ ++
Diachylonsalbe	30	(+) +
10% Salicyl-Diachylonsalbe	27	+ +
aufgerauhte Haut	—	— —
unbehandelt	I	+ +
unbehandelt	II	(+) —
Diachylonsalbe		++++
10% Salicyl-Diachylonsalbe		++++
Filter		—

„Die Unterschiede in den Bleigehalten, für den die Anzahl der + ein ungefähres, geschätztes Maß sein soll, sind in den verschiedenen Proben sehr gering. Bei den verwendeten Materialmengen sind die Bleigehalte schon fast an der Grenze der Nachweisbarkeit, und man erhält so nur sehr geringe Schwärzungsunterschiede bei den Spektralaufnahmen der verschiedenen Proben. Bei den beiden oben angeführten Proben von unbehandeltem Material handelt es sich im ersten Fall (I) um die Probe, bei der das Versuchstier mit Instrumenten zerlegt worden war, die schon vorher für die anderen behandelten Tiere gebraucht wurden. Dadurch ist wohl der geringe Bleigehalt zu erklären. Der negative Bleibefund in den ersten Filteraufnahmen zeigt, daß das verwendete Elektroden-Material einwandfrei war."

Aus den gewonnenen Werten geht hervor, daß Blei aus den verwendeten Salben resorbiert wurde. Die deutlichste Erhöhung des Bleigehaltes weisen die Organe der mit Diachylonsalbe behandelten Meerschweinchen auf. Bemerkenswert ist, daß bei Diachylonsalbe und aufgerauhter Haut ebenso wie bei 10% Salicyl-Diachylonsalbe und unverletzter Haut der Bleigehalt in den Nieren größer als in den Lebern war. Bei 10% Salicyl-Diachylonsalbe und Aufrauhung der Haut wurden die geringsten Bleimengen in Leber und Niere gefunden. Auf eine Erklärung dieser Erscheinungen und auf die quantitativen Verhältnisse der resorbierten Bleimengen überhaupt wird in der Schlußbetrachtung eingegangen.

Die Grenze der Genauigkeit für die verwendete Apparatur wurde uns mit 0,01 mg angegeben.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß von allen Meerschweinchen am Ende des Versuchs Blutausstriche angefertigt wurden.

Es stellte sich aber heraus, daß nicht nur alle behandelten Tiere, sondern auch die Normaltiere basophil punktierte Erythrocyten aufwiesen. Daraus ist zu ersehen, daß diese Veränderung des Blutbildes nicht auf die perkutane Bleizufuhr zurückgeführt werden kann, sondern einen anderen Grund haben muß. Vielleicht liegt der Grund in dem Schwefelgehalt des Depilatoriums, denn auch bei den Normaltieren wurden die Haare chemisch entfernt. Dies festzustellen gehört jedoch nicht in den Rahmen dieser Arbeit.

Abschließend ist zu sagen, daß es gelang, die Hauptresorption von Blei aus perkutan angewendeten bleihaltigen Salben mittels Abfangverfahren, histochemischer Methode und funkenspektrographisch nachzuweisen. Die angestellten Untersuchungen lieferten allgemein eine Bestätigung der für die unverletzte Haut einleitend angeführten Theorie. Es ist an Hand der nach *Almkvist* gefärbten Schnitte besonders gut zu sehen, wie das Blei verhältnismäßig leicht in die Hornhaut aufgenommen wird, sich aber dann an der Uebergangsschicht staut, um nach Ueberwindung dieses Hindernisses weiter in die Haut resorbiert zu werden. Die Fällungen von Bleisulfid sind an der Grenze Hornschicht–Uebergangsschicht am stärksten. Gegen die Uebergangsschicht hin findet eine Auflösung in feinere Fällungskörner statt. Die hemmende Wirkung der Uebergangsschicht dürfte ihren Grund in der dem isolektrischen Punkt entsprechenden Wasserstoffionenkonzentration dieser Schicht haben, wodurch einerseits die darin enthaltenen Eiweißstoffe an Quellbarkeit einbüßen, andererseits die Gefahr von Pb-Albuminatfällungen erhöht wird. Die auch innerhalb der Uebergangsschicht festgestellten PbS-Fällungen zeigen, ebenso wie der positive Ausfall der funkenspektrographischen Untersuchungen von Leber und Nieren, daß die Schranke der Uebergangsschicht überwunden wird. Die histologischen Schnitte zeigen vor allem aber auch, daß gehäufte Fällungen in Zusammenhang mit den Hautanhangsgebilden auftreten. Es hat sogar den Anschein, als käme diesem Resorptionsweg die Hauptbedeutung zu.

Außerhalb der Epidermis waren Ablagerungen von Bleisulfid verstreut über die Cutis, in der bindegewebigen Umhüllung der Fettzellen, in den Gefäßwänden und im Lumen der Gefäße selbst anzutreffen.

Die Verletzung der Haut durch Aufrauhung mit Bimstein ergab keine Erhöhung der Resorption. Eher hatte man den Eindruck, als ob diese dadurch vermindert würde. Die resorptionsfördernde Wirkung der Hautsekrete und -exkrete ist bekannt und sie gilt auch für das Blei. Ihre saure Reaktion und die der Epidermiszellen selbst fördert die Bildung von lipoidlöslichen und damit leicht resorbierbaren komplexen Bleisalzen. *Schade* und *Marchionini* stellten fest, daß alle

Risse und Erosionen der Haut ein Aufheben des Säuregrades bedeuten. Sobald die Epidermis nur an kleinsten Stellen durchtrennt war, konnten alkalische Werte erzielt werden. Nun haben aber die Bleisalze bei alkalischer Reaktion eine erhöhte Neigung, Pb-Albuminatfällungen zu bilden. Die in unserem Versuch angewandte Aufrauhung der Haut und die damit verbundene Exsudation hat eine erhebliche Alkalisierung und damit eine Hemmung der Bleiresorption zur Folge. Diese ist so stark, daß auch die Freilegung des Coriums und die teilweise Eröffnung der in ihr liegenden Lymphräume offensichtlich nicht genügt, um den Bleiverlust der an der Wunde durch Eiweißfällungen entsteht, auszugleichen.

Die schlechten Resorptionsbedingungen, welche die 10% Salicyl-Diachylonsalbe aufweist, dürften ihre Ursache darin haben, daß durch die keratolytische Wirkung Eiweißstoffe frei werden, mit denen das Blei wiederum schwer resorbierbare Komplexsalze bildet. Es ist aber auch daran zu denken, daß die Konzentration des Bleies in dieser Salbe geringer ist.

Das relativ stärkere Auftreten von Blei in den Nieren bei Diachylonsalbe mit aufgerauhter Haut, ebenso wie bei 10% Salicyl-Diachylonsalbe und unverletzter Haut könnte damit erklärt werden, daß die aus den oben angeführten Gründen geringere für die Resorption zur Verfügung stehende Bleimenge schneller resorbiert wird und nach 48 Stunden schon ein Abtransport derselben in die Nieren stattgefunden hat.

Als letzte Frage ist noch die über die Größe der zur Resorption gelangten Bleimengen zu beantworten. Die geringe Ausdehnung der in der Haut erzielten Fällungen und die Tatsache, daß die perkutane Zufuhr nicht ausreichte um in den Lebern und Nieren histochemisch nachweisbare Ablagerungen zu erhalten, ließ bereits darauf schließen, daß auf dem Hautwege nur minimale Mengen aufgenommen werden. Nach den Untersuchungen von *Sayer* ist die Bleimenge, die normalerweise in einem Meerschweinchen vorkommt, das „Normalblei", 0,05 mg. Die in den Lebern und Nieren der behandelten Tiere festgestellten Bleimengen waren an den Grenzen der funkenspektrographischen Erfaßbarkeit. Nachdem aber die Grenze der Genauigkeit der verwendeten Apparatur bei 0,01 mg lag, ist es unzweifelhaft, daß die von *Süßmann* gefundene „mittlere Permeabilitätsgröße" von 0,025 mg, d. h. die durch 1 qcm im Tagesdurchschnitt eintretende Bleimenge viel zu hoch gegriffen ist.

Zusammenfassung.

1. Es wurde an Hand von Tierversuchen mittels histochemischer Methoden, Abfangverfahren und funkenspektrographischen Untersuchungen nachgewiesen, daß Blei aus perkutan angewendeten bleihaltigen Salben durch die Haut resorbiert wird.

2. Die resorbierten Mengen erwiesen sich, soweit dies durch die angewandten Methoden feststellbar war, auch im Falle der verletzten Haut als außerordentlich gering. Eine toxikologische Bedeutung kommt ihnen, sofern sich die Applikation der Ungt. Diachylon innerhalb therapeutischer Bedingungen bewegt, sicher nicht zu.

Die Arbeit wurde auf Anregung und mit Unterstützung von Professor *Moncorps* im Sommersemester 37 an der Dermatologischen Universitätsklinik München begonnen; aus äußeren Gründen konnte sie erst Ende Sommersemester 39 an der Universitäts-Hautklinik Münster zum Abschluß gebracht werden. Professor *Dr. Mayr* danke ich für die Uebernahme des Referates.

Schrifttum.

Almkvist J.: Derm. Zschr. 13, 827 (1906); Derm. Zschr. 19, 949 (1912), Derm. Zschr. 24, 1 (1917).
Behrens: Archiv f. exp. Pathol. 109, 332 (1925); Archiv f. exp. Pathol. 137, 305 (1928).
Behrendt: Dtsch. med. Wschr. 1899, Nr. 40.
Brezina u. Eugling: Hyien. Rdsch. 23, 491 (1912).
Cžapek F.: Ueber eine Methode z. direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen, Jena (1911).
Doczy: Derm. Zschr. 78, 82 (1939).
Durig: Pflügers Archiv f. Physiol. 85, 401 (1901).
Flury F.: Heffler Handb. exp. Pharm. 3. Bd, 3. Teil, 1575 (1934).
Gerlach W.: Beitr. path. Anat. 91, 639 (1933).
Grawitz E.: Berl. klin. Wschr. 181 (1900); Dtsch. med. Wschr. 585 (1899).
Hahn v. F., Zbl. H. u. G. 21, 386 (1927).
Hamel: Dtsch. Archiv klin. Med. 67, 357 (1900).
Hauschka R., Truttwin's Kosmet. Chemie, S. 273 (1924).
Heffter: Handb. exp. Pharmakol., Bd. III/3.
Henriques u. Okkels, Pflüger's Archiv f. Physiol. 225, 364 (1932).
Hoffmann E.: Dtsch. med. Wschr. (1921); Derm. Zschr. 33, 1 (1921); Derm. Zschr. 74, 313 (1937).
Iwahashi: Zschr. f. ger. Med. 14, 108 (1930).
Kojima, Yutaka u. Tei Nihommatsu: Trans-Jap. path. Soc. 19, 119 (1929).
Komiyama T.: Klin. Wschr. 2012 (1925).
Lomholt: Bioch. J. 18, 693 (1924).
Maliva: Med. Klin. 22 u. 46 (1926).
Mesnil Du: Dtsch. Archiv klin. Med. 52, 47.
Moncorps C.: Archiv f. Derm. 155, 311 (1928); Autoreferat Zbl. H. u. G 30, 37 (1929); Zbl. H. u. G. 30. 809 (1929); Archiv exp. Pathol. 141, 25 (1930); Archiv exp. Pathol. 141, 50 (1929); Archiv exp. Pathol. 141, 67 (1929).
Nakagawa Kijoshi, Jap. Journ. of Derm. 44, 16—38.
Necke A., Schmidt P. M. u. Klostermann: Dtsch. med. Wschr. (1926), 1855.
Perutz A.: Jadassohns Handb. H. u. G., Bd. V/1.
Rauh F.: Archiv f. exp. Pharmakol. 174, 352 (1934).
Rothmann: A. Bethe, Handb. d. norm. u. pathol. Physiol., Bd. 4, 107.
Schmidt-Labaume F.: Zbl. H. u. G. 61, 627 (1939); Zbl. H. u. G. 62, 4 (1939).
Stejskal K.: Zbl. H. u. G. 26, 537 (1928).
Strauch C. B.: Bruns Beitr. klin. Chir. 141, 358 (1927).
Süßmann: Archiv f. Hyg. 90, 175 (1921); Archiv f. Hyg. 106, 160 (1931).
Schwenkenbecher: Archiv f. Physiol. 121 (1904).
Timm F.: Zellmikrochemie d. Schwermetallgifte, Leipzig 1932 (Habil.-Arb.).
Traube-Mengarini: Archiv f. Anat. Erg., Bd. 1 (1892).
Tsunoda S.: Jap. Journ. of Derm. 25, 82 (1925).
Unna u. Golodetz: Monh. f. prakt. Derm. 44, 397 (1907).
Vogt Chr. u. Burckhardt L.: Archiv f. Hygien. 85, 323 (1915).

Lebenslauf.

Am 12. Juli 1912 wurde ich in Straubing als Sohn des Uhrmachermeisters Franz Schmid und seiner Ehefrau Maria Schmid geboren. Dort besuchte ich 4 Klassen Volks- und 6 Klassen Realschule. 1928 trat ich in die Oberrealschule Regensburg ein, an der ich 1931 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommer 1931 begann ich mein medizinisches Studium, dem ich an den Universitäten München, Erlangen, Berlin und Hamburg oblag. Meine ärztliche Vorprüfung legte ich 1933 in München, meine ärztliche Schlußprüfung 1937 ebenda ab. Während meines praktischen Jahres war ich an der Unviversitäts-Hautklinik und an der I. Medizinischen Klinik zu München tätig. Als Volontärassistent war ich an der II. Universitätsklinik für Frauenkrankheiten zu München und an der Universitätshautklinik zu Münster in Westfalen tätig. Dort schloß ich Mitte August 1939 die zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades vorgelegte Arbeit ab. Am 26. August wurde ich zum Heere eingezogen und bin augenblicklich als Hilfsarzt im Reservelazarett Deggendorf, Krankenhaus, tätig.

Josef Schmid.